

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



Rec'd PCT/PTO 23 JUN 2004



(43) 国際公開日
2003 年 7 月 10 日 (10.07.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/056331 A1

(51) 国際特許分類: G01N 33/50, 33/15, A61K 7/00,
7/48, 35/78, 35/78, A61P 17/00, 17/04

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/13713

(22) 国際出願日: 2002 年 12 月 26 日 (26.12.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2001-397571

2001 年 12 月 27 日 (27.12.2001) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社資生堂 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒104-8010 東京都中央区銀座 7 丁目 5 番 5 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 芦田 豊 (ASHIDA, Yutaka) [JP/JP]; 〒224-8558 神奈川県横浜市都筑区早瀬 2-2-1 株式会社資生堂 リサー

チセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP). 青木 宏文 (AOKI, Hirofumi) [JP/JP]; 〒224-8558 神奈川県横浜市都筑区早瀬 2-2-1 株式会社資生堂 リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP). 藤原 留美子 (FUJIWARA, Rumiko) [JP/JP]; 〒224-8558 神奈川県横浜市都筑区早瀬 2-2-1 株式会社資生堂 リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA, Takashi et al.); 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目 5 番 1 号 虎ノ門 3 7 森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CN, KR, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: DRUGS FOR AMELIORATING ITCH, ROUGH SKIN OR HYPERSENSITIVE SKIN OR FOR WHITENING VIA INHIBITION OF THE PRODUCTION AND RELEASE OF STEM CELL FACTOR

(54) 発明の名称: 幹細胞因子の産生・放出の抑制による掻痒、肌荒れ、敏感肌及び美白用薬剤

(57) Abstract: A method of screening an active ingredient which inhibits the production and/or release of a stem-cell factor (hereinafter referred to as "SCF") and thus ameliorates skin itch, rough skin or hypersensitive skin or exerts a whitening effect; and drugs containing such an active ingredient for ameliorating skin itch, rough skin or hypersensitive skin and/or whitening.

(57) 要約:

本発明は幹細胞因子 (以下「SCF」) の産生及び/又は放出を抑制することにより皮膚掻痒、肌荒れや敏感肌を改善する、又は美白効果を発揮する有効成分のスクリーニング方法、並びにかかる有効成分を含む掻痒、肌荒れ、敏感肌及び/又は美白用薬剤を提供する。

WO 03/056331 A1

明 細 書

幹細胞因子の産生・放出の抑制による掻痒、肌荒れ、敏感肌及び美白用薬剤

技術分野

本発明は幹細胞因子（以下「SCF」）の産生及び／又は放出を抑制することにより皮膚掻痒、肌荒れや敏感肌を改善する、又は美白効果を発揮する有効成分のスクリーニング方法、並びにかかる有効成分を含む掻痒、肌荒れ、敏感肌及び／又は美白用薬剤に関する。

背景技術

従来より、皮膚掻痒、肌荒れ、敏感肌の改善効果や美白効果を有するものとして種々の治療薬、皮膚外用剤、化粧品等が使用されている。皮膚掻痒、肌荒れ、敏感肌の改善効果を発揮する従来の薬剤や化粧品等においては、有効成分として消炎剤やアミノ酸、多糖、脂質等のほか、抗炎症作用、あるいは高い保湿作用を有する各種動植物エキスが皮膚の痒み、炎症、角質層の水分の消失を防ぐ能力に優れているために用いられてきた。また、美白効果を発揮する従来の薬剤や化粧品等においては、有効成分としてL-アスコルビン酸、グルタチオン、コウジ酸、システイン、ハイドロキノン、胎盤抽出物等がメラニンの生成を抑制してしみ、そばかす等を防ぐのに優れているために用いられてきた。しかしながら、いずれにおいてもその効果は必ずしも十分ではなく、より優れた薬剤の開発が所望されている。

SCF（別名：kit ligand [KL]又はmast cell growth factor[M

CF)) がしみ部位等において発現が亢進していること、紫外線照射により S C F の発現が亢進することは知られている (L. H. Kligman et al., Photochem. Photobiol. Vol.63, No.2 (1996) pp.123-127)。S C F は角化細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞等において産生されるタンパク質である。S C F の作用としては、未分化造血幹細胞の増殖、生殖細胞の分化促進、肥満細胞の増殖促進、色素細胞の増殖促進作用等がある (Bio Science 用語ライブラリー サイトイカイン・増殖因子 羊土社(1995) 宮園浩平、菅村和夫編)。S C F には膜結合型 (S C F - 2) と、タンパク質分解酵素の作用により切断された膜から遊離する分泌型 (S C F - 1) があることが知られている。S C F - 2 は角化細胞などに結合したまま色素細胞の S C F レセプターに結合して色素細胞の増殖を活性化し、また S C F - 1 はその切断部位において切断されて細胞膜から遊離し、色素細胞や肥満細胞の S C F レセプターに結合し、色素細胞の増殖を活性化し、また肥満細胞の増殖活性化及び脱顆粒化をもたらす (T. Kunisada et al., J. Exp. Med., Vol.187, No.10, (1998) pp.1565-1573)。S C F の異常産生は色素細胞の異常増殖につながり、メラニン産生を亢進させ、しみ、そばかす、くすみ等の原因となる。また、肥満細胞の異常増殖、異常脱顆粒化にもつながり、ヒスタミン、セロトニン、L T B 4 等のケミカルメディエーターの遊離を亢進させ (J. Grabbe et al., Arch Dermatol Res (1984) 287:78-84)、掻痒、肌荒れ、敏感肌等の原因となる。

従って、このような掻痒、肌荒れ、敏感肌、しみ、そばかす等の直接的な原因と考えられる S C F の産生、放出を効果的に抑制できれば、従来にない全く新たな、且つ一段と有効な掻痒、肌荒れ、敏感肌及び／又は美白用薬剤の提供に結びつくと考えられる。しかしながら、従来技術において、このような S C F 産生、放出の抑制活

性をもつ物質又は生薬も、そのような物質又は生薬の効果的なスクリーニング方法も知られていない。T. Kunisada et al (前掲) はトランスジェニックマウスを利用した動物実験により肥満細胞及び色素細胞に対する S C F の作用を検討している。しかしながら、そのような動物実験の利用は時間及び費用がかさむため、多種多様な生薬、薬剤のスクリーニングには適さず、より簡便且つ廉価に S C F 産生、放出の抑制活性をもつ有効成分又は生薬をスクリーニングできる方法が所望されていた。

驚くべきことに、本発明者は、ヒト表皮角化細胞に乾燥等の刺激を与えることで S C F の産生又は遊離を促進させることができることを見出し、その結果 S C F の産生及び／又は放出を効果的に抑制することができる有効成分を効率的にスクリーニングすることに成功した。

発明の開示

すなわち本発明は、第一の態様において、S C F の産生及び／又は放出を抑制することにより掻痒、肌荒れもしくは敏感肌の改善効果又は美白効果を発揮する有効成分をスクリーニングする方法であって、S C F を発現する細胞を被験成分と接触させ、当該細胞が産生及び／又は放出する S C F の量を測定して S C F の産生及び／又は放出量を減少させる被験成分を前記有効成分として選定する方法の際、当該 S C F 発現細胞に刺激を与えて S C F の産生及び／又は放出を促進させることを特徴とする方法を提供する。

一の観点において、前記刺激は乾燥刺激、紫外線照射刺激又は薬剤刺激、好ましくは乾燥刺激である。

別の観点において、前記スクリーニング方法は、前記 S C F 発現細胞を前記被験成分と接触させ、次いで当該細胞に刺激を与え、し

かる後に当該細胞が産生及び／又は放出する S C F の量を測定して前記有効成分を選定する方法である。

第二の態様において、本発明はバラエキスローズ水、チャエキス、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、シラカバエキス、ケイヒエキス、チョウジエキス、アルニカエキス、ボタンエキス、ボダイジュ、クロレラエキス、ローマカミツレエキス、紅茶エキス、ユーカリエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、アセンヤクエキス、ブドウ葉エキス、ボウフウエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、ダイズエキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス、オトギリソウエキス及びヨモギエキスから成る群から選ばれる 1 又は複数を含んで成る、S C F 産生及び／又は抑制皮膚外用剤を提供する。

第三の態様において、本発明は S C F の産生及び／又は放出を抑制する成分を掻痒改善有効成分として含有する掻痒用皮膚外用剤を提供する。

一の観点において、前記掻痒改善有効成分は、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、チョウジエキス、ローマカミツレエキス、紅茶エキス、ユーカリエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、ボウフウエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ショウブ根エキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス及びオトギリソウエキスから成る群から選ばれる 1 又は複数である。

第四の態様において、本発明は S C F の産生及び／又は放出を抑制する成分を肌荒れ防止有効成分として含有する肌荒れ防止用皮膚

外用剤を提供する。

一の観点において、前記肌荒れ防止有効成分はサンザシエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、オノニスエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、カギカズラ、サボンソウエキス及びアルテアエキスから成る群から選ばれる1又は複数である。

第五の態様において、本発明はSCFの産生及び／又は放出を抑制する成分を敏感肌改善有効成分として含有する敏感肌用皮膚外用剤を提供する。

一の観点において、前記敏感肌改善有効成分はバラエキスローズ水、チャエキス、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、シラカバエキス、ケイヒエキス、チョウジエキス、クロレラエキス、紅茶エキス、ユーカリエクス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、アセンヤクエキス、ブドウ葉エキス、ボウフウエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、ダイズエキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス、オトギリソウエキス及びヨモギエキスから成る群から選ばれる1又は複数である。

第六の態様において、本発明はSCFの産生及び／又は放出を抑制する成分を美白有効成分として含有する美白用皮膚外用剤を提供する。

一の観点において、前記美白有効成分はバラエキスローズ水、オノニスエキス、アセンヤクエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、サボンソウエキス、クロレラエキス及びユーカリエクスから成る群から選ばれる1又は複数である。

第七の態様において、本発明はSCFの産生及び／又は放出を抑

制することにより掻痒、肌荒れもしくは敏感肌の改善効果又は美白効果を発揮する有効成分をヒト又は哺乳動物の表皮に塗布することを含んで成る、掻痒、肌荒れもしくは敏感肌の改善又は美白方法を提供する。

第八の態様において、本発明は紫外線刺激により角化細胞内又は細胞膜上に発現するSCFを抑制する成分を含有する薬剤を提供する。

一の観点において、前記成分はバラエキスローズ水、チャエキス、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、シラカバエキス、ケイヒエキス、チョウジエキス、アルニカエキス、ボタンエキス、ボダイジュ、クロレラエキス、ローマカミツレエキス、紅茶エキス、ユーカリエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、アセンヤクエキス、ブドウ葉エキス、ボウフウエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、ダイズエキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス、オトギリソウエキス及びヨモギエキスから成る群から選ばれる1又は複数である。

別の観点において、前記成分はアズキ末、アルニカエキス、オノニスエキス又はアンソッコウエキスである。

上述の各態様の抽出エキスは以下のような手法により得たものを試験に供した。

① ヨモギ、ケイヒ、アズキ末、ショウブ根、ステビアは、水を溶媒として室温から50℃まで加温して数時間抽出した後常法により各エキスを得た。

② サボンソウ、サンザシ、チョウジ、アルテア、ボダイジュ、ボタン、ユーカリ、アンソッコウ、ヒノキ、ウーロン茶、クワ、ダイ

ズ、アセンヤクは、含水エタノール（30%エタノール）を溶媒として室温で一週間浸漬・抽出した後常法により各エキスを得た。

③ 紅茶は、水又は含水エタノール（30%エタノール）を溶媒として、加温（60℃）5時間抽出した後常法によりエキスを得た。

④ シラカバ、チャ、オトギリソウ、オノニス、アルニカ、パリエタリア、クロレラ、バラエキスローズ水、ブドウ葉、ホップ、ローマカミツレは、80%又は90%エタノール水を溶媒として、60℃、3時間、又は90℃、2時間加温・抽出した後常法により得たものを供した。

図面の簡単な説明

図1は、乾燥刺激を与えた細胞に対する各種生薬エキスによるSCFの抑制を示すグラフである。

図2は、乾燥刺激を与えた細胞に対する各種生薬エキスによるSCFの抑制を示すグラフである。

図3は、紫外線刺激による細胞のSCF発現の亢進を示すグラフである。

図4は、薬剤刺激による細胞のSCF発現の亢進を示すグラフである。

図5は、紫外線刺激を与えた細胞に対する各種生薬エキスによるSCFの抑制を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

本発明を以下に詳細に説明する。

本願発明は、SCFの産生及び／又は放出を抑制することにより掻痒、肌荒れもしくは敏感肌の改善効果又は美白効果を発揮する有効成分をスクリーニングする方法を提供する。このスクリーニング

方法は、SCFを発現する細胞を被験成分と接触させ、当該細胞が産生及び／又は放出するSCFの量を測定してSCFの産生及び／又は放出量を減少させる被験成分を前記有効成分として選定することを含んで成るが、その際、当該SCF発現細胞に刺激を与えてSCFの産生及び／又は放出を促進させることを特徴とする。

本発明者はヒト角化細胞のような皮膚細胞に乾燥等の刺激を与えると細胞のSCFの産生及び／又は放出が促進されることを見出した。従って、細胞にこのような刺激を与えることで、掻痒、肌荒れ、敏感肌やしみ、そばかす等の発症に結びつくSCFの異常発現を細胞に対し誘導させることができる。このことを利用し、本発明者はSCFの産生及び／又は放出を抑制する被験成分を細胞に作用させる際、SCFの産生及び／又は放出を促進させる刺激を与えておくことでSCFの発現を亢進させ、SCFの産生及び／又は放出を効果的に抑制できる有効成分を効率的にスクリーニングすることに成功した。このような刺激としては、乾燥刺激の他、紫外線照射刺激、熱刺激（加熱及び冷却）、薬剤刺激（例えば、フォルスコリン、テオフィリン）、浸透圧刺激、酸化刺激等のストレスが挙げられる。

本発明に係るスクリーニング方法における細胞の刺激は、細胞に被験成分を作用させる前、同時、又は後であってよい。好ましくは、細胞に被験成分を作用させた後に細胞に刺激を与える。

詳しくは、当該スクリーニング方法は、例えば下記のようにして実施することができる。

(1) SCF産生細胞を適当な培養液を用いて培養する（例えば、約25～37℃、好ましくは約37℃にて数時間～数日、好ましくは約72時間）。

(2) 被験成分を適当な細胞培養液により所定の濃度（例えば0.000

1%-0.01%) に希釈する。

(3) (1)の細胞培養液を上記希釈被験成分と交換し、インキュベーションする（例えば、約25～37℃、好ましくは約37℃にて数時間～数日、好ましくは約24時間）。その際、任意的に、コントロールとして、上記被験成分を含まない媒体を同様に作用させた細胞も用意しておく。

(4) 次に、上記被験成分の作用された細胞に刺激を与える。刺激が乾燥刺激の場合、上記細胞培養液の上清液を除去し、乾燥条件下でインキュベーションする。その際、任意的に、コントロールとして、上記刺激を与えない細胞も用意しておく。

(5) 上記刺激を与えた細胞に培地を添加し、インキュベーションする（例えば、約25～37℃、好ましくは約37℃にて約30分～4時間、好ましくは約2時間）。

(6) 上記細胞の上清液を回収し、SCFの量を測定し、SCFの産生及び／又は放出を抑制する成分を選定する。

SCFの産生・放出量の抑制は、媒体のみを添加した場合を100%として、被験成分を加えたときにSCF産生量が25%程度の低下したときをもって、抑制とする。ただし、顕著な細胞毒性（例えば、75%程度までの呼吸活性の低下等）の起さない濃度範囲で被験成分を添加するものとする。

使用するSCF産生細胞としては、例えばヒト又はその他の哺乳動物、例えばラット、マウス、ウサギ、等に由来する角化細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞等であってよい。好ましくは、ヒト角化細胞を使用する。

上述の通り、刺激には、乾燥刺激、紫外線照射刺激、熱刺激（加熱及び冷却）、薬剤刺激（例えば、フォルスコリン、テオフィリン）、浸透圧刺激、酸化刺激等のストレスが挙げられる。乾燥刺激の

場合、例えば細胞をCO₂インキュベーター内でCO₂約1～5%、湿度約0～100%、温度25～37℃の雰囲気下で培地を除去して適当な時間、例えば約15分～6時間、好ましくは約1時間放置することで細胞に乾燥刺激を与えてよい。紫外線照射刺激の場合、例えば細胞に約290～320nm、10～60 mJ/cm²で紫外線照射することで細胞に刺激を与えてよい。熱刺激の場合、例えば細胞をCO₂インキュベーター内でCO₂約1～5%、湿度約0～100%、温度4～25℃又は37～42℃で適当な時間、例えば約5分～6時間、好ましくは約1時間放置することで細胞に刺激を与えてよい。

本発明のスクリーニング方法は好ましくはin vitroで行なわれるが、in vivoで実施することもできる。

SCFの測定

本発明において、SCF発現細胞が産生及び／又は放出するSCFの測定は、好ましくは細胞がその培養液の中に放出するSCF又は破碎した細胞や細胞の膜画分に含まれるSCFを定性又は定量測定することにより実施する。測定するSCFは、細胞膜から遊離して細胞培養液に放出される分泌型(SCF-1)でも、細胞の膜画分に含まれる膜結合型(SCF-2)でもよい。SCFの測定は当業界周知の方法、例えば、免疫測定方法、例えば酵素ラベルを利用するELISA法、放射性ラベルを利用するRIA法、抗体と抗原との反応で生ずる濁りの吸光度の変化から抗原量を定量する免疫比濁法、抗原と抗体感作ラテックスビーズもしくは抗体感作赤血球との反応によって生ずる凝集反応の度合いから抗原量を測定するラテックス凝集法や赤血球凝集法等、様々な方法が挙げられる。免疫測定法の方式には競合法やサンドイッチ法が挙げられる。他に、電気泳動法、等電点電気泳動法、クロマトグラフィー法、例えばゲル濾過クロマトグラフィー法、イオン交換クロマトグラフィー法、逆相

クロマトグラフィー法、高速液体クロマトグラフィー法、ウェスタンブロット法、等により実施することができる。本発明において、好ましくはSCFの測定はELISAにより実施する。

上記免疫測定方法において使用するSFCに特異的な抗体はモノクローナル抗体でもポリクローナル抗体でもよい。モノクローナル抗体が特に好ましい。モノクローナル抗体やポリクローナル抗体の作成は当業者に周知である。

本発明者は本発明に係るスクリーニング方法に従い、以下の生薬がSCF産生細胞由来のSCFの量を減少させることができることを見出した：

バラエキスローズ水、チャエキス、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、シラカバエキス、ケイヒエキス、チョウジエキス、アルニカエキス、ボタンエキス、ボダイジュ、クロレラエキス、ローマカミツレエキス、紅茶エキス、ユーカリエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、アセンヤクエキス、ブドウ葉エキス、ボウフウエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、ダイズエキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス、オトギリソウエキス、ヨモギエキス。かかる生薬の詳細については、日本汎用化粧品原料集第4版（薬事日報）を参照されたい。

上記生薬エキスは、常法により原料植物から抽出されたもので、抽出法には制限されず、例えば、チョウジエキスであれば、日本薬局方チョウジを乾燥し、細切したもの10kgに、50 v/v % のエタノール（化粧品原料基準、無水エタノール及び同精製水にて調製）を加えて24時間浸漬し、圧搾分離してエキスを得ることにより獲得できる。

本発明における掻痒、肌荒れ、敏感肌は、細胞により放出された S C F が肥満細胞の S C F レセプターに結合することで誘導されたものをいう。掻痒とは広義における皮膚、頭皮の痒みを意味し、例えば乾燥、アトピー性皮膚炎、老人性乾皮症による掻痒等が挙げられる。肌荒れとは広義における肌の劣化した状態を意味し、掻痒による掻破やアトピー性皮膚炎の悪化劣化の結果引き起こされる肌荒れ、乾燥による肌荒れ等が挙げられる。敏感肌とは、被刺激性が亢進した状態の肌を意味し、外界からの非特異的な物理化学的刺激、例えば掻破、温熱、発汗、日光、衣服、付着物等、また精神的ストレス刺激に対して過敏に反応する肌の状態を指す。

本発明における美白効果とは、日焼け、乾燥その他の原因により細胞により放出された S C F が色素細胞の S C F レセプターに結合することで誘導されるメラニンの過剰生産により引き起こされるしみ、そばかす、くすみ等を改善することを意味する。

本発明の掻痒、肌荒れ、敏感肌及び美白用薬剤は、通常、上記 S C F 産生・放出抑制有効成分を水やエタノール等の水性溶媒に含有させて用いられる。本発明の S C F 産生・放出抑制成分の配合量は特に限定されないが、固形分換算で 0.00001～0.01 重量%、特に 0.0001～0.005 重量%程度の範囲が好ましい。尚、本発明に係る薬剤を入浴剤として調製する場合、使用時に通常 100～1000 倍程度に希釈されるので、配合はそれを加味した高濃度で処方されるのが好ましい。上記水性溶媒としては、低級アルコールが好ましく、低級アルコールの含有量は、本発明の薬剤中に、20～80 重量%、さらに好ましくは 40～60 重量%である。

また、本発明の掻痒、肌荒れ、敏感肌及び美白用薬剤には、上記必須成分以外に、通常化粧品や医薬品等の皮膚外用剤に用いられる成分、例えば、その他の美白剤、保湿剤、酸化防止剤、油性成分、

紫外線吸収剤、界面活性剤、増粘剤、アルコール類、粉末成分、色剤、水性成分、水、各種皮膚栄養剤等を必要に応じて適宜配合することができる。

その他、薬剤の用途に合わせ、エデト酸二ナトリウム、エデト酸三ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、メタリン酸ナトリウム、グルコン酸等の金属封鎖剤、カフェイン、タンニン、ベラパミル、トラネキサム酸およびその誘導体、甘草抽出物、グラブリジン、カリンの果実の熱水抽出物、各種生薬、酢酸トコフェロール、グリチルリチン酸およびその誘導体またはその塩等の薬剤、ビタミンC、アスコルビン酸リン酸マグネシウム、アスコルビン酸グルコシド、アルブチン、コウジ酸等の他の美白剤、グルコース、フルクトース、マンノース、ショ糖、トレハロース等の糖類、レチノイン酸、レチノール、酢酸レチノール、パルミチン酸レチノール等のビタミンA類なども適宜配合することができる。

本発明の掻痒、肌荒れ、敏感肌及び美白用薬剤は、その用途に合わせ、例えば化粧料、医薬品、医薬部外品等の外用剤、例えば化粧水、クリーム、乳液、ローション、パック、浴用剤、軟膏、ヘアーローション、ヘアートニック、ヘアーリキッド、シャンプー、リンス、養毛・育毛剤等、従来皮膚外用剤に用いるものであればいずれでもよく、剤型は特に問わない。

実施例

次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。

実験例 1

乾燥刺激により角化細胞膜から放出されるSCFの測定と抑制薬剤のスクリーニング

市販のヒト表皮角化細胞（新生児；Cryo NHEK-Neo, 三光純薬）を、市販の無血清培地（Defined Keratinocyte-SFM, GIBCO社）を用い

て培養した。12穴マイクロプレートに 1×10^5 cells/mLで細胞をまいて、コンフルエントになるまで約37°Cで約72時間培養した。

水またはエタノールで抽出した図1及び2に示す各生薬エキスを2% w/v となるように70%エタノールに溶解した。

培養液中に終濃度が0.005% w/vとなるように被験生薬エキスを加え、37°Cで24時間インキュベートした。コントロールとして、エタノール(EtOH)のみを加えたものもインキュベートした。最後の2時間は細胞の活性を検討するため、即ち被験生薬エキスの細胞障害作用による影響を調べるため、*AlamarBlue*™ (バイオソース・インターナショナル) を10%となるように添加し、上清の蛍光強度(*excitation* 560nm, *emission* 590nm)を測定した。

乾燥刺激として、上清を完全に除去したのちCO₂インキュベータ内に1時間放置した。

次いで培地を添加し、その2時間後に上清を回収した。上清中SCF量を市販のELISA法による測定キット (R&D Systems社) で定量した。

乾燥刺激を加えなかったものを対照として、被験生薬エキスのSCF量抑制作用を評価した。

同時に被験生薬エキスの持つ細胞傷害性を*AlamarBlue*™の還元量を指標に評価した。

その結果を図1及び2に示す。図1及び2の(a)は各生薬エキスを添加した場合の*AlamarBlue*™の還元量を示し、(b)は各生薬エキスを添加し、乾燥刺激を与えた細胞の培地中の遊離SCFの量から、各生薬エキスを添加し、乾燥刺激を与えなかった細胞の培地中の遊離SCFを差し引いた値を示す。図1及び2の結果から明らかな通り、各種生薬エキスはエタノールと比較して培養液中のSCFの量を有意に減少させ、従ってSCFの産生及び／又は放出を効果的

に抑制できることがわかった。

実験例 2

各種刺激による角化細胞膜上でのSCFの発現の亢進

10cmプレートに150万個の角化細胞を播種し、72時間培養した後、(1)培地をPBS(-)に交換し、UVBを $20\text{mJ}/\text{cm}^2$ で照射し直ちにPBS(-)を培地に交換するか、(2)フォルスコリンを添加する又は(3)テオフィリンを添加して、細胞に刺激を与えた。24時間培養後細胞を回収し、50mMリン酸緩衝液(pH7.8)+プロテアーゼ阻害剤溶液 $200\mu\text{l}$ に細胞を拡散した後、超音波破碎機により30秒5回 4°C で細胞を破碎した。これを10,000g、20分、 4°C で遠心分離し、上清を更に100,000g、60分 4°C で遠心分離した。得られたペレットを25mMリン酸緩衝液(pH6.8)+0.1%Triton-X100溶液 $100\mu\text{l}$ に溶かして、膜画分タンパク抽出液とした。この溶液のタンパク量を定法により測定し、さらにSCF量を測定して、SCF量/タンパク量の値を得た。

その結果を図3及び4に示す。図の結果から明らかな通り、細胞に紫外線刺激、又はフォルスコリンやテオフィリン等の薬剤刺激を与えると、細胞内又は細胞膜上でのSCFの発現が亢進されることが明らかとなった。

実験例 3

紫外線刺激により角化細胞膜上に発現するSCFの測定と抑制薬剤のスクリーニング

10cmプレートに150万個の角化細胞を播種し、72時間培養した後、培地をPBS(-)に交換、UVBを $20\text{mJ}/\text{cm}^2$ で照射し、直ちにPBS(-)を培地に交換する。そこにスクリーニング対象生薬を添加し、24時間培養後細胞を回収し、50mMリン酸緩衝液(pH7.8)+プロテアーゼ阻害剤溶液 $200\mu\text{l}$ に細胞を拡散した後、超音波破碎機により30秒5回 4°C で細胞を破碎した。これを10,000g、20分、 4°C で遠心分離し

、上清を更に100,000g、60分4℃で遠心分離した。得られたペレットを25mMリン酸緩衝液(pH6.8)+0.1%Triton-X100溶液100 μ lに溶かして、膜面タンパク抽出液とした。この溶液のタンパク量を定法により測定し、さらにSCF量を測定して、SCF量/タンパク量の値を得た。この値について、対象薬剤添加群のうち、溶媒のみを添加した群と比べて25%以下に低下せしめる候補生薬を、上記抑制薬剤とする。

その結果を図5に示す。図5の結果から明らかな通り、各種生薬エキ스로処理された細胞は、紫外線照射のみで処理した細胞と比較してSCFの発現が有意に抑制されたことがわかった。

以下に、種々の剤型の本発明による生薬エキス含有薬剤の処方例を列挙する。

実施例 1

ボディー用クリーム

配合量 (重量部)

メチルポリシロキサン	3
デカメチルシクロペンタシロキサン	13
オクタメチルシクロテトラシロキサン	12
ポリオキシエチレン・メチルポリシロキサン共重合体	1
エタノール	2
イソプロパノール	1
グリセリン	3
ジプロピレングリコール	5
ポリエチレングリコール6000	5
メタリン酸ナトリウム	0.05
DL- α -トコフェロール 2-L-アスコルビン酸リン酸	
ジエステルカリウム	0.1

酢酸DL- α -トコフェロール	0.1
カフェイン	0.1
ウイキョウエキス	0.1
ハマメリスエキス	0.1
人参エキス	0.1
ソウジュツエキス末	0.005
L-メントール	適量
パラオキシ安息香酸エステル	適量
エデト酸3ナトリウム	0.05
ジモルホリノピリダジン	0.01
トリメトキシ桂皮酸メチルビス(トリメチルシロキシ)	
シリルイソペンチル	0.1
黄酸化鉄	適量
チタン酸コバルト	適量
ジメチルジステアリルアンモニウムヘクトライト	1.5
ポリビニルアルコール	0.1
ヒドロキシエチルセルロース	0.1
精製水	残余
トリメチルシロキシケイ酸	2
香料	適量

実施例 2

乳液

	配合量 (重量部)
メチルポリシロキサン	2
ベヘニルアルコール	1
キシリトール	1
バチルアルコール	0.5

グリセリン	5
1, 3-ブチレングリコール	7
エリスリトール	2
硬化油	3
スクワラン	6
テトラ2-エチルヘキサン酸ペンタエリスリット	2
イソステアリン酸ポリオキシエチレングリセリル	1
モノステアリン酸ポリオキシエチレングリセリン	1
アンソッコウエキス	0.001
水酸化カリウム	適量
ヘキサメタリン酸ナトリウム	0.05
フェノキシエタノール	適量
カルボキシビニルポリマー	0.11
精製水	残余

実施例 3

化粧水

配合量 (重量部)

グリセリン	2
1, 3-ブチレングリコール	4
エリスリトール	1
ポリオキシエチレンメチルグルコシド	1
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0.5
クエン酸	0.02
クエン酸ナトリウム	0.08
フェノキシエタノール	0.25
N-ヤシ油脂肪酸アシルL-アルギニンエチル・DL-	
ピロリドンカルボン酸	0.1

カギカズラ

0.0001

精製水

残余

実施例 4

美白化粧水

配合量 (重量部)

エチルアルコール	10
ジプロピレングリコール	1
ポリエチレングリコール 1000	1
ポリオキシエチレンメチルグルコシド	1
ホホバ油	0.01
トリ 2-エチルヘキサン酸グリセリル	0.1
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0.2
ジイソステアリン酸ポリグリセリル	0.15
N-ステアロイル-L-グルタミン酸ナトリウム	0.1
クエン酸	0.04
クエン酸ナトリウム	0.18
水酸化カリウム	0.4
グリチルリチン酸ジカリウム	0.1
塩酸アルギニン	0.1
L-アスコルビン酸 2-グルコシド	2
黄金エキス	0.1
雪ノ下エキス	0.1
パラベン	0.12
踊子草エキス	0.1
ジブチルヒドロキシトルエン	0.01
エデト酸 3 ナトリウム	0.05
パラメトキシ桂皮酸 2-エチルヘキシル	0.01

サボンソウエキス	0.005
精製水	残余
ミネラル水	3
香料	適量

実施例 5

トリートメント マスク

配合量 (重量部)

エタノール	10
1, 3-ブチレングリコール	6
ポリエチレングリコール 4000	2
オリーブ油	1
マカデミアナッツ油	1
ヒドロキシステアリン酸フィトステリル	0.05
乳酸	0.05
乳酸ナトリウム液(50%)	0.2
L-アスコルビン酸硫酸エステル 2 ナトリウム	0.1
DL- α -トコフェロール 2-L-アスコルビン酸リン酸	
ジエステルカリウム	0.1
ビタミンE アセテート	0.1
魚コラーゲン	0.1
コンドロイチン硫酸トリウム	0.1
パラオキシ安息香酸エステル	0.1
カルボキシメチルセルロースナトリウム	0.2
ポリビニルアルコール	12.5
トラネキサム酸	1
ビャクジュツエキス末	0.001
精製水	残余

香料

適量

実施例 6

美白エッセンス

配合量 (重量部)

ワセリン	2
メチルポリシロキサン	2
エチルアルコール	5
ベヘニルアルコール	0.5
バチルアルコール	0.2
グリセリン	7
1, 3 - ブチレングリコール	5
ポリエチレングリコール 20000	0.5
ホホバ油	3
スクワラン	2
ヒドロキシステアリン酸コレステリル	0.5
テトラ 2 - エチルヘキサン酸ペンタエリスリット	1
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	1
水酸化カリウム	0.1
ピロ亜硫酸ナトリウム	0.01
ヘキサメタリン酸ナトリウム	0.05
グリチルレチン酸ステアリル	0.1
パントテニルエチルエーテル	0.1
アルブチン	7
酢酸トコフェロール	0.1
ヒアルロン酸ナトリウム	0.05
ユーカリエキス	0.001
パラオキシ安息香酸エステル	適量

エデト酸 3 ナトリウム	0.05
4-tert-ブチル-4'-メトキシジベンゾイルメタン	0.1
ジパラメトキシ桂皮酸モノ-2-エチルヘキサン酸	
グリセリル	0.1
黄酸化鉄	適量
キサンタンガム	0.1
カルボキシビニルポリマー	0.2
精製水	残余

実施例 7

掻痒用入浴剤

配合量 (重量部)

流動パラフィン	35
ポリエチレングリコール	20
スクワラン	5
2-エチルヘキサン酸セチル	5
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	5
クエン酸	0.1
クエン酸ナトリウム	0.2
グリシン	0.5
ヒアルロン酸ナトリウム	0.3
フェノキシエタノール	0.5
パリエタリアエキス	1
精製水	残余
香料	適量

産業上の利用の可能性

本発明に従って、SCFの産生・放出を生薬を効率的にスクリー

ニングすることができる。

請 求 の 範 囲

1. 幹細胞因子（以下「SCF」）の産生及び／又は放出を抑制することにより掻痒、肌荒れもしくは敏感肌の改善効果又は美白効果を発揮する有効成分をスクリーニングする方法であって、SCFを発現する細胞を被験成分と接触させ、当該細胞が産生及び／又は放出するSCFの量を測定してSCFの産生及び／又は放出量を減少させる被験成分を前記有効成分として選定する際、当該SCF発現細胞に刺激を与えてSCFの産生及び／又は放出を促進させることを特徴とする方法。

2. 前記刺激が乾燥刺激、紫外線照射刺激又は薬剤刺激である、請求項1記載のスクリーニング方法。

3. 前記SCF発現細胞を前記被験成分と接触させ、次いで当該細胞に刺激を与え、しかる後に当該細胞が産生及び／又は放出するSCFの量を測定して前記有効成分を選定する、請求項1又は2記載のスクリーニング方法。

4. バラエキスローズ水、チャエキス、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、シラカバエキス、ケイヒエキス、チョウジエキス、アルニカエキス、ボタンエキス、ボダイジュ、クロレラエキス、ローマカミツレエキス、紅茶エキス、ユーカリエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、アセンヤクエキス、ブドウ葉エキス、ボウフウエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、ダイズエキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス、オトギリソウエキス及びヨモギエキスから成る群から選ばれる1又は複数を含んで成る、SCF産生及び／又は抑制皮膚外用剤。

5. S C F の産生及び／又は放出を抑制する成分を掻痒改善有効成分として含有する掻痒用皮膚外用剤。

6. 前記掻痒改善有効成分が、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、チョウジエキス、ローマカミツレエキス、紅茶エキス、ユーカリエクス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、ボウフウエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ショウブ根エキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス及びオトギリソウエキスから成る群から選ばれる 1 又は複数を含んで成る、請求項 5 記載の掻痒用皮膚外用剤。

7. S C F の産生及び／又は放出を抑制する成分を肌荒れ防止有効成分として含有する肌荒れ防止用皮膚外用剤。

8. 前記肌荒れ防止有効成分が、サンザシエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、オノニスエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、カギカズラ、サボンソウエキス及びアルテアエキスから成る群から選ばれる 1 又は複数を含んで成る、請求項 7 記載の肌荒れ防止用皮膚外用剤。

9. S C F の産生及び／又は放出を抑制する成分を敏感肌改善有効成分として含有する敏感肌用皮膚外用剤。

10. 前記敏感肌改善有効成分が、バラエキ스로ーズ水、チャエキス、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、シラカバエキス、ケイヒエキス、チョウジエキス、クロレラエキス、紅茶エキス、ユーカリエクス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、アセンヤクエキス、ブドウ葉エキス、ボウフウエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、ダ

イズエキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス、オトギリソウエキス及びヨモギエキスから成る群から選ばれる 1 又は複数を含んで成る、請求項 9 記載の敏感肌用皮膚外用剤。

11. SCF の産生及び／又は放出を抑制する成分を美白有効成分として含有する美白用皮膚外用剤。

12. 前記美白有効成分が、バラエキスローズ水、オノニスエキス、アセンヤクエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、サボンソウエキス、クロレラエキス及びユーカリエキスから成る群から選ばれる 1 又は複数を含んで成る、請求項 11 記載の美白用皮膚外用剤。

13. SCF の産生及び／又は放出を抑制することにより掻痒、肌荒れもしくは敏感肌の改善効果又は美白効果を発揮する有効成分をヒト又は哺乳動物の表皮に塗布することを含んで成る、掻痒、肌荒れもしくは敏感肌の改善又は美白方法。

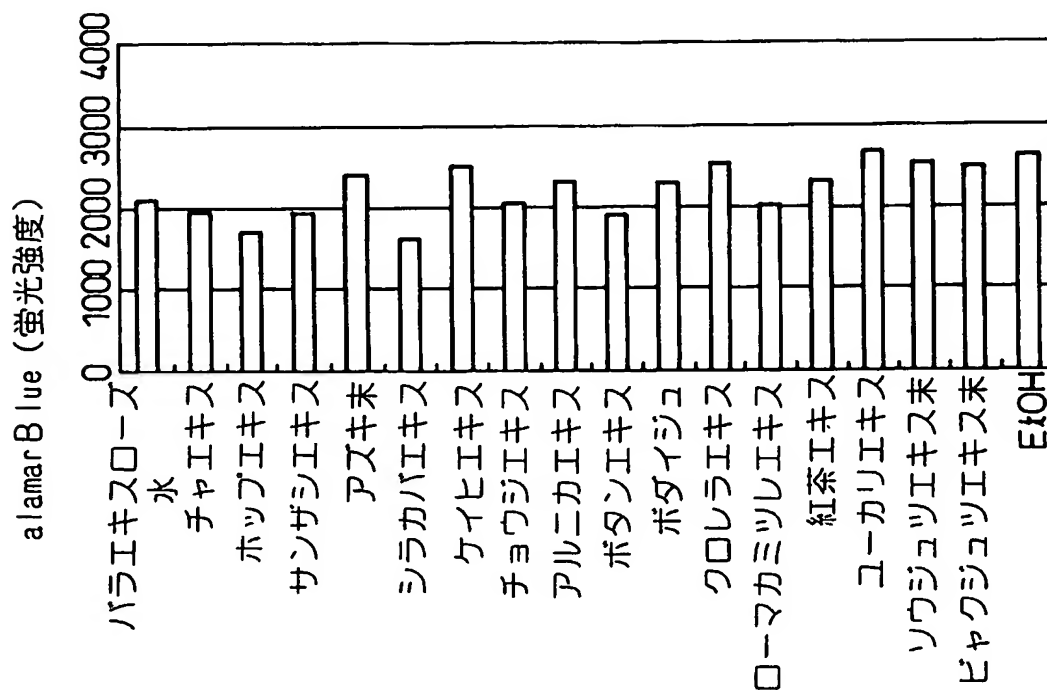
14. 紫外線刺激により角化細胞内又は細胞膜上に発現する SCF を抑制する成分を含有する薬剤。

15. 前記成分がバラエキスローズ水、チャエキス、ホップエキス、サンザシエキス、アズキ末、シラカバエキス、ケイヒエキス、チョウジエキス、アルニカエキス、ボタンエキス、ボダイジュ、クロレラエキス、ローマカミツレエキス、紅茶エキス、ユーカリエキス、ソウジュツエキス末、ビャクジュツエキス末、ウーロン茶エキス末、オノニスエキス、アセンヤクエキス、ブドウ葉エキス、ボウフウエキス、クワエキス、パリエタリアエキス、アンソッコウエキス、ステビアエキス、ヒノキ、ショウブ根エキス、ダイズエキス、カギカズラ、サボンソウエキス、アルテアエキス、オトギリソウエキス及びヨモギエキスから成る群から選ばれる 1 又は複数である、請求項 14 記載の薬剤。

16. 前記成分がアズキ末、アルニカエキス、オノニスエキス又はアンソッコウエキスである、請求項14記載の薬剤。

Fig.1

(a)



(b)

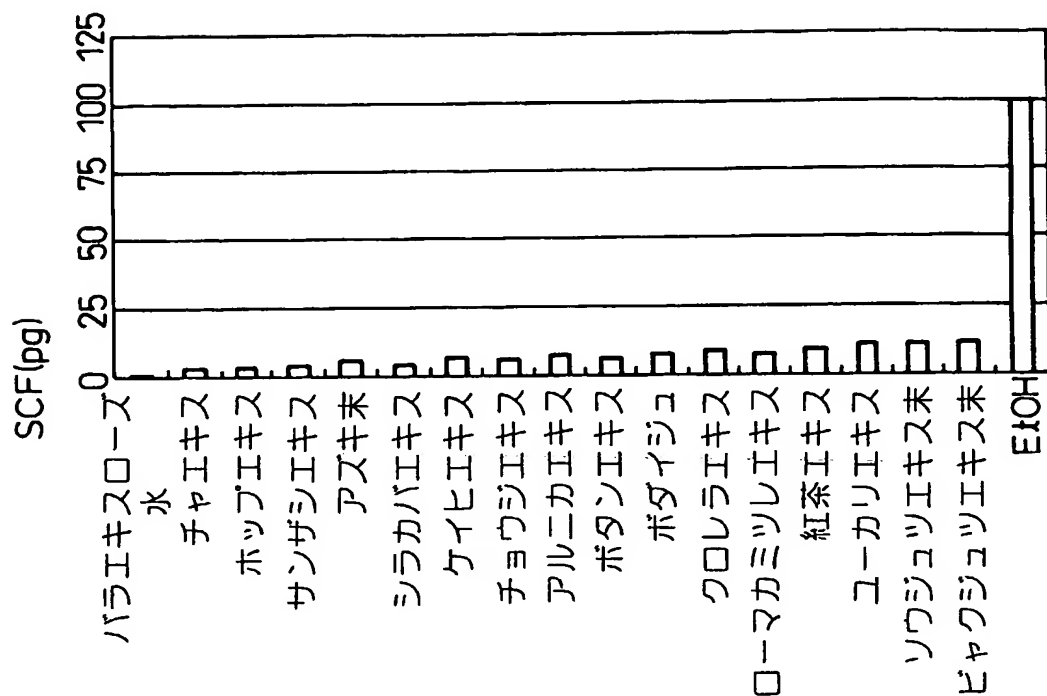


Fig.2

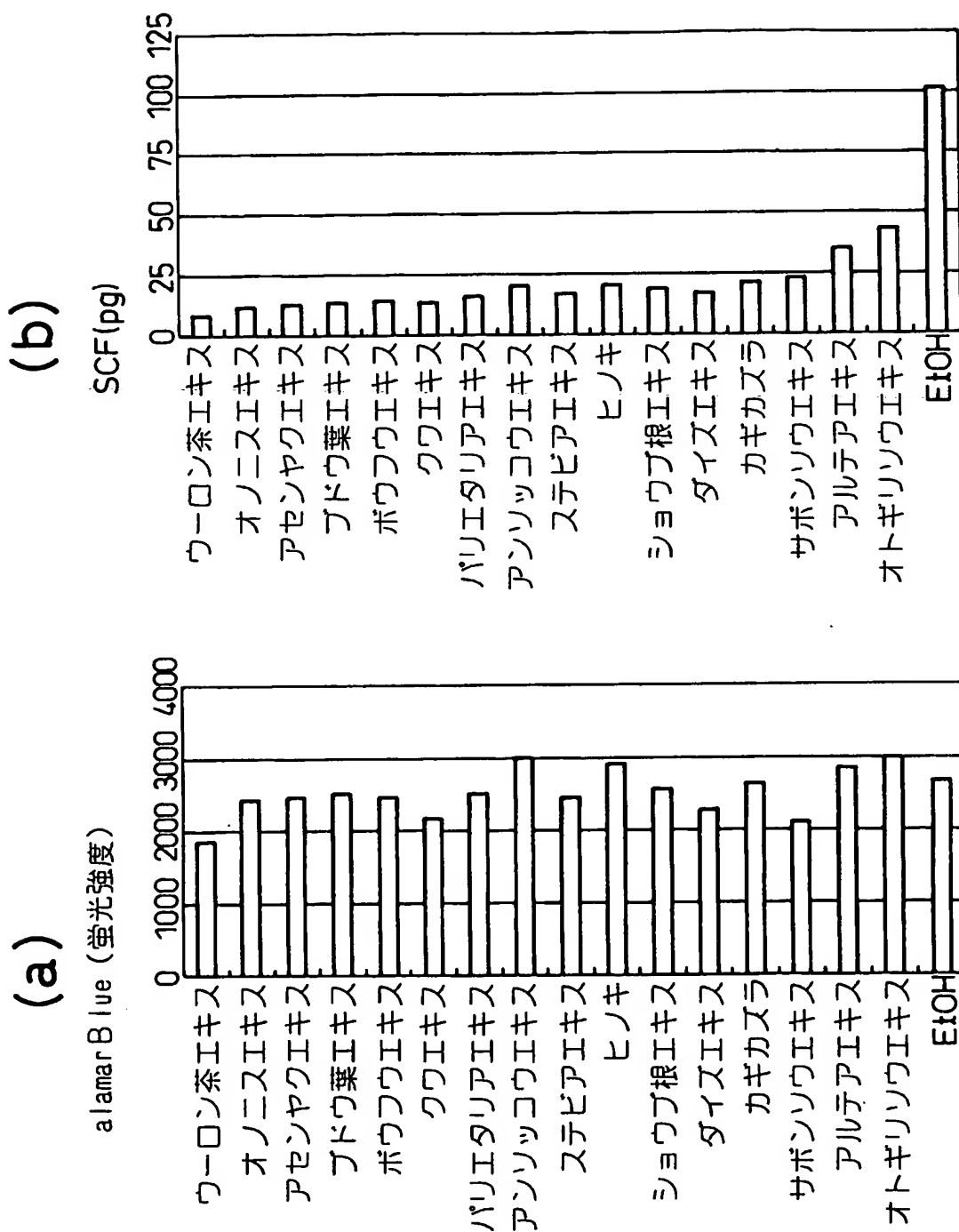


Fig.3

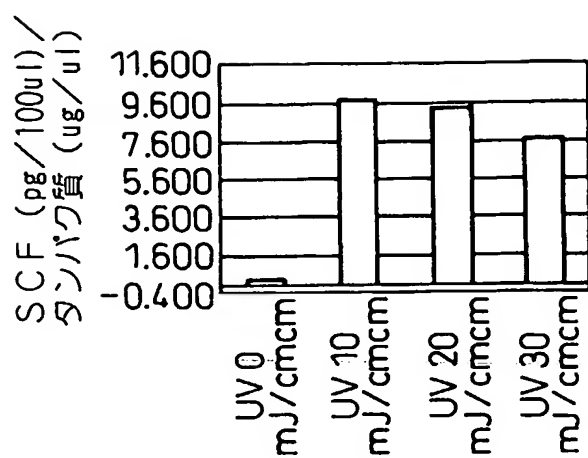


Fig.4

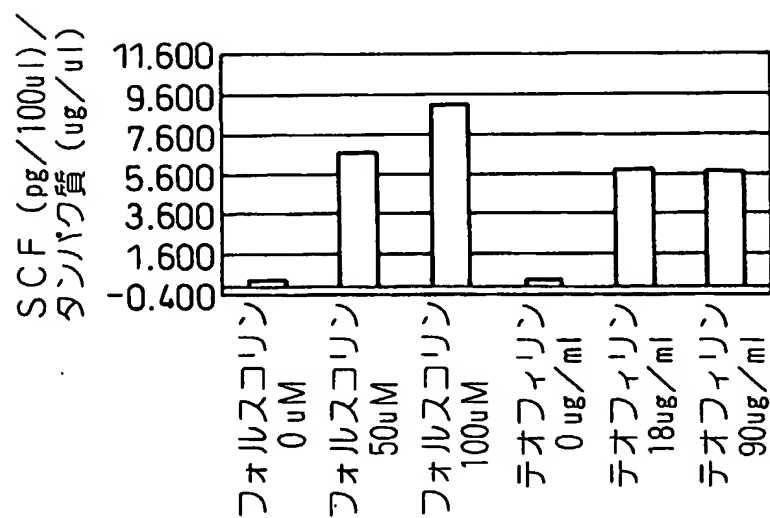
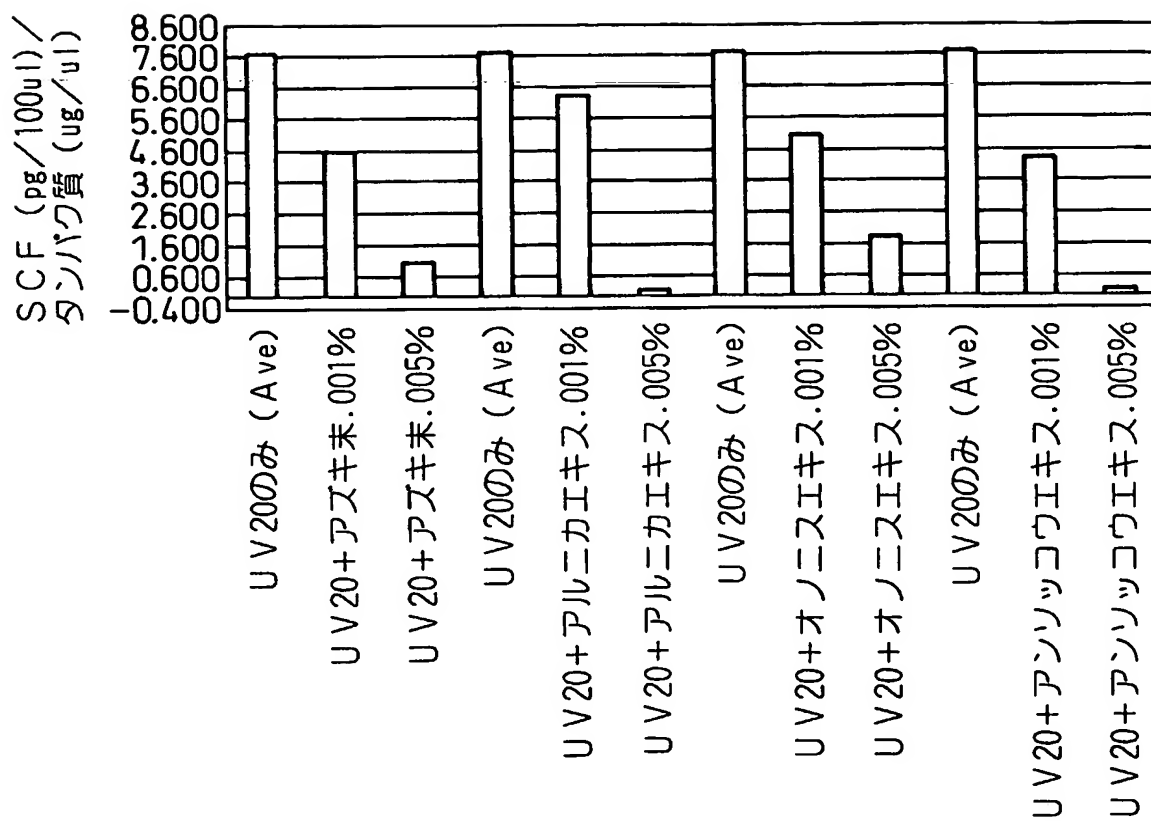


Fig. 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP02/13713

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N33/50, G01N33/15, A61K7/00, A61K7/48, A61K35/78,
A61K35/78, A61P17/00, A61P17/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N33/50, G01N33/15, A61K7/00, A61K7/48, A61K35/78,
A61K35/78, A61P17/00, A61P17/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-4881 A (Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.), 11 January, 2000 (11.01.00), (Family: none)	1-3
A	WO 95/30412 A (Kanebo, Ltd.), 16 November, 1995 (16.11.95), & EP 74252 A & US 6008188 A	1-3
X	JP 11-180813 A (Ichimaru Pharcos Co., Ltd.), 06 July, 1999 (06.07.99), (Family: none)	4-8, 14, 16
X	JP 2000-256171 A (Ichimaru Pharcos Co., Ltd.), 19 September, 2000 (19.09.00), (Family: none)	4, 7, 8, 11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 12 March, 2003 (12.03.03)	Date of mailing of the international search report 25 March, 2003 (25.03.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

International application No.
PCT/JP02/13713

PCT/JP02/13713

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 10-279417 A (Shiseido Co., Ltd.), 20 October, 1998 (20.10.98), (Family: none)	4, 9, 10, 14, 15
X	JP 2000-119156 A (Kose Corp.), 25 April, 2000 (25.04.00), (Family: none)	4, 11-16

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO2/13713

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N 33/50 G01N 33/15 A61K 7/00 A61K 7/48 A61K 35/78 A61K 35/78
A61P 17/00 A61P 17/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N 33/50 G01N 33/15 A61K 7/00 A61K 7/48 A61K 35/78 A61K 35/78
A61P 17/00 A61P 17/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-2003年
日本国登録実用新案公報 1994-2003年
日本国実用新案登録公報 1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2000- 4881 A(株式会社大塚製薬工場)2000.01.11 (ファミリーなし)	1-3
A	WO 95/30412 A(鐘紡株式会社)1995.11.16 & EP 774252 A & US 6008188 A	1-3
X	JP 11-180813 A(一丸ファルコス株式会社)1999.07.06 (ファミリーなし)	4-8, 14, 16

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

12.03.03

国際調査報告の発送日

25.03.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

宮澤 浩



2J

9407

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2000-256171 A(一丸ファルコス株式会社)2000.09.19 (ファミリーなし)	4, 7, 8, 11
X	JP 10-279417 A(株式会社資生堂)1998.10.20, (ファミリーなし)	4, 9, 10, 14, 15
X	JP 2000-119156 A(株式会社コーセー)2000.04.25 (ファミリーなし)	4, 11-16